

К вопросу о гемоглобин-преципитинах.

Доцента А. Д. Гусева.

(Сообщение второе).

В августовском номере „Казанского медицинского журнала“ за 1927 год я сообщил результаты своих опытов иммунизации кроликов кристаллическим гемоглобином лошади и тогда же отметил чрезвычайную важность получения гемоглобин-преципитиновой сыворотки для целей судебной медицины.

Тогда мною было иммунизировано четыре кролика экстрактом эритроцитов человека и шесть кроликов—кристаллическим гемоглобином лошади. Я не буду здесь повторять результатов иммунизации, напомним только, что иммунизация экстрактом эритроцитов не дала специфической сыворотки, иммунизация же кристаллическим гемоглобином дала результаты, вполне сходные с полученными Higaschi в 1923 г.

Из последней группы кроликов одному (№ 5) было произведено две серии инъекций раствора кристаллического гемоглобина, остальным же (№№ 6—10)—по одной серии из пяти инъекций. Свои опыты я тогда не считал законченными, т. к. практика нашей лаборатории показала, что наиболее высокий титр специфической сыворотки получается лишь после нескольких серий иммунизации, почему в дальнейшем некоторым из кроликов вновь вводился раствор кристаллического гемоглобина лошади. Приготовление раствора и техника введения его мною указаны в моем первом сообщении, почему здесь я прямо перехожу к изложению полученных результатов.

Кролик № 5, получивший за две первых серии иммунизации всего немного более 0,2861 гемоглобина, дал тогда сыворотку титра 1:150. Третья иммунизация была произведена в промежуток времени с 28/IV по 14/V того же года, причем кролик получил следующие дозы гемоглобина лошади: 28/IV—0,0232, 2/V—0,02525, 6/V—0,0315, 10/V—0,03815 и 14/V—0,0404, всего же за третью серию—0,1535.

Испытание титра сыворотки, произведенное 27/V, показало, что даже в растворе кристаллического гемоглобина 1:1200 через 5 минут получается кольцо мутн. Для испытания титра сыворотки был взят раствор кристаллического гемоглобина, 1 куб. сант. которого содержал 0,0105 гемоглобина. Следовательно, при растворе 1:1200 положительные результаты были получены даже с количеством гемоглобина, равным 0,00000792. Безусловно, титр сыворотки настолько высок, что ее вполне можно считать пригодной для практических целей.

Кролик № 6 после второй серии иммунизации, произведенной в то же время и в тех же количествах, что и третья серия у кролика № 5,

дал специфическую сыворотку титра 1:800, т. е. положительная реакция преципитации была получена с количеством гемоглобина, равным 0,0000117.

Кролику № 7 повторная иммунизация была произведена за время с 26/VI по 10/VII 1927 г. в следующих количествах: 26/VI введено 0,02625 гемоглобина лошади, 30/VI—0,0315, 6/VII—0,03675 и 10/VII—0,042. Таким образом этому кролику за вторую серию иммунизации было введено 0,1365, а за обе серии—0,4411 гемоглобина. Для испытания титра сыворотки взят раствор, 1 куб. сант. которого заключал в себе 0,0118 кристаллического гемоглобина лошади. Положительная реакция через 3 минуты получилась в разведениях до 1:800, а через 8 минут—и в растворе 1:1000. Следовательно, положительная реакция получилась с количеством гемоглобина, равным 0,00001062.

У кролика № 8 вторая серия иммунизации в те же сроки и теми же количествами, что и у кролика № 6, дала те же результаты, что и этого последнего.

У кролика № 9 вторая серия иммунизации была произведена в те же сроки и теми же количествами, что и у кролика № 7. Титр сыворотки был тот же, что у последнего, но реакция протекала значительно быстрее и отчетливее.

Кролик № 10 (самка) повторно не иммунизировался вследствие наступившей беременности, а затем кормления кроличат.

Кроме испытания титра сывороток, во всех случаях нами проверялась и их специфичность. Опыты ставились с кровью человека, коровы, сывороткой лошади и физиологическим раствором, применявшимся при опытах. Результаты всех этих опытов во всех случаях были отрицательны.

Таким образом опыты с иммунизацией кроликов кристаллическим гемоглобином лошади дали вполне удовлетворительные результаты, но практическое значение для судебно-медицинских целей гемоглобин-преципитовая проба может приобрести только после того, как будут получены столь же удовлетворительные результаты при иммунизации животных кристаллическим гемоглобином человека. Между тем в нашем распоряжении не имелось метода, с помощью которого мы могли бы получить кристаллический гемоглобин человека в количестве, достаточном для иммунизации. Попыток получения такого гемоглобина в больших количествах было немало (литература этого вопроса указана мною в работе „Получение стойких кристаллов гемоглобина из крови человека“¹⁾), но все эти попытки не приводили к желательным результатам. Поэтому неотложной задачей явилась разработка метода, при помощи которого можно было бы получить достаточное количество стойкого кристаллического гемоглобина. Зима 1927—28 г. была мною посвящена этим попыткам, и в конце концов мне удалось выработать метод, позволяющий даже при малооборудованной лаборатории получать достаточные количества кристаллического гемоглобина. Я не буду описывать этот метод, так как он подробно изложен мною в выше цитированной статье, и перехожу прямо к описанию результатов иммунизации кроликов кристаллическим гемоглобином человека.

Всего до сих пор мною было иммунизировано этим гемоглобином шесть кроликов (кролики №№ 11—16), причем всем им было произведено пока лишь по одной серии иммунизации из пяти инъекций.

¹⁾ Казанский медицинский журнал, 1928, № 7.

Раствор гëмоглобина, применявшийся при инъекциях, приготовлялся так же, как и при опытах иммунизации гëмоглобином лошади, с той лишь разницей, что свежеполученный кристаллический гëмоглобин человека оказался более легко растворимым, и поэтому для иммунизации применялись более концентрированные его растворы.

Иммунизация производилась в следующие сроки и следующими количествами гëмоглобина: кролику № 11 первая инъекция была сделана 11/II 1928 г., введено 0,0266 кристаллического гëмоглобина человека, вторая инъекция 15/II—0,03325 гëмоглобина, третья 20/II—0,102 гëмоглобина, четвертая 24 II—0,06405 гëмоглобина и пятая 28/II—0,0931 гëмоглобина. Всего за пять инъекций кролик этот получил 0,319 кристаллического гëмоглобина человека.

12/III было произведено испытание титра и специфичности сыворотки. Для испытания титра взят раствор, заключавший в 1 куб. сант. 0,018 того же гëмоглобина человека. Так как трудно было надеяться после первой же серии иммунизации получить слишком высокий титр сыворотки, то для проверки были взяты лишь растворы до 1:1000. Во всех пробирках очень быстро появилось кольцо мути, а через 2 минуты—резкое белое кольцо реакции. Таким образом даже 0,0000162 гëмоглобина давало резкую реакцию с сывороткой.

Для испытания специфичности были применены растворы (в тех же концентрациях) гëмоглобина лошади, сыворотки лошади и человека, физиологический раствор, раствор сухой крови коровы и сухой крови человека. Только с последним раствором (кровь человека) были получены положительные результаты, при всех же остальных растворах реакция была отрицательной. Следовательно, полученная сыворотка оказалась строго видо—и органоспецифичной.

Кроликам №№ 12 и 13 инъекции были произведены в те же сроки, что и кролику № 11, но им вводилось несколько меньшее количество гëмоглобина человека, а именно 11/II—0,01995, 15/II—0,0266, 20/II—0,085, 24/II—0,0549 и 28 II—0,0798 гëмоглобина. Следовательно, за всю первую серию обоим кроликам было введено по 0,26625 гëмоглобина.

Испытание титра и специфичности сывороток, произведенное 12/III, дало те же результаты, что и у кролика № 11.

Кроликам №№ 14, 15 и 16 была произведена тоже одна серия иммунизации кристаллическим гëмоглобином человека в следующие сроки и следующими количествами (всем трем кроликам инъекции производились в одни и те же дни, и вводилось одно и то же количество гëмоглобина): 29/III—0,036, 4/IV—0,0431, 9/IV—0,054, 13/IV—0,0612 и 19/IV—0,072 гëмоглобина человека. Всего за пять инъекций кроликам этим было введено по 0,2663 кристаллического гëмоглобина.

1/V произведено испытание титра и специфичности сывороток, причем в качестве основного раствора был взят раствор, заключавший в 1 куб. сант. 0,017 кристаллического гëмоглобина человека. Оказалось, что сыворотка кролика № 14 совершенно неспецифична и не дает преципитации ни с одним из примененных для испытания растворов гëмоглобина человека, сыворотка кролика № 15 пределом реакции имеет 0,0000153 гëмоглобина, а сыворотка кролика № 16 тотчас же после добавления дает резкую реакцию с количеством гëмоглобина 0,0000153.

Испытание сывороток кроликов №№ 15 и 16 на их специфичность, поставленное так же, как с сывороткой кролика № 11, дало те же результаты, и сыворотки эти оказались также видо—и органоспецифическими.

Как видно из результатов изложенных опытов, испытание титра полученных сывороток мною до конца не доводилось, и я не пытался установить предела реакции, а довольствовался лишь установлением положительного действия и специфичности сывороток. Несомненно, особенно после повторных серий иммунизации, специфические для гемоглобина человека преципитирующие сыворотки будут иметь высокий титр, безусловно достаточный для практического применения их,—в этом теперь не может быть никакого сомнения, т. к. даже после первой серии иммунизации были получены сыворотки, реагирующие с минимальными количествами гемоглобина. Столь же несомненно, что эти гемоглобин-преципитиновые сыворотки найдут себе широкое применение не только в области судебно-медицинской экспертизы, но и в области практической медицины, например, при диагностике рака и язвы желудка, при которых в настоящее время производится исследование кала на „скрытую“ кровь столь ненадежными реакциями, каковы гваяковая, бензидиновая и др. При применении гемоглобин-преципитиновой реакции, в виду ее строгой видо—и органоспецифичности, не будет более надобности выдерживать больного на диете, лишенной мяса, не нужно будет и предварительной сложной обработки кала, а реакция будет ставиться так же просто, как и с чистыми растворами гемоглобина, и *ex tempore*. В этом—большое преимущество гемоглобин-преципитиновой реакции.

Поставленных нами опытов вполне достаточно для того, чтобы сделать следующие выводы:

- 1) Иммунизация кроликов растворами кристаллических гемоглобинов ведет к образованию специфических антител.
- 2) Получаемые при этом сыворотки не только видоспецифичны, но и органоспецифичны.
- 3) Титр получаемых сывороток достаточно высок для того, чтобы сыворотки эти получили практическое применение.

Безусловно, следует оговориться, что необходимо еще широко поставленное изучение действия на гемоглобин-преципитиновые сыворотки различных влияний, что должно составить предмет новой и тщательной работы; но я уверен, что это изучение даст нам только ряд новых данных в пользу применения этих сывороток.
